

## Válaszok Dr. Altorjay Áron

“Az ischaemiás kórállapotok befolyásolhatósága az idő függvényében”  
című MTA doktori értekezéséről készített **bíráói véleményére**

---

Ezúton szeretném megköszönni Dr. Altorjay Áron Tanár Úrnak a dolgozatommal kapcsolatos véleményezését, építő jellegű kritikai észrevételeit.

A feltett kérdésekre az alábbi válaszokat adom:

Az első 3 kérdésre a válaszokat - tekintve, hogy a kísérlet alatt alkalmazott anaesthesiaról szól - egyben szeretném megválaszolni.

### **1. Mennyire befolyásolja az altatószer a mikrokeringési értékeket? Hogyan adagolták a ketamin és xylasin fenntartó dózisát? Tapasztaltak-e akut keringési - mikrokeringési - változást az altatószer beadását követően?**

A nagy lélegzetvételű műben csupán egy helyen említtem az altatással kapcsolatos részeket, így lehet, hogy ez nem kapott elég hangsúlyt. A „4.1.3. Anesztézia, testhőmérséklet és a műtét ideje” alatt olvasható: *„Az anesztézia indukciója intraperitoneálisan beadott 75 mg/ttkg ketaminnal (Calypsol®) és 7,5 mg/ttkg xilazinnal (Xylasin®) történt. Az altatás fenntartására 25 mg/ttkg/óra ketaminnal és 2,5 mg/ttkg/óra xilazinnal került sor infúziós pumpa segítségével a jobb oldali vena jugularis-on keresztül.”*

Tekintettel a ketamin sympatomimeticus hatására, a kezdeti nagyobb indukciós dózisok alatt kialakulhatott volna észlelhető vérnyomás-emelkedés (ekkor az állatban még nem volt vérnyomásmérésre alkalmas kanül). Ugyanakkor a vérnyomásmérő kanül behelyezése után, az egyidőben indított fenntartó dózisú altatószer adagolása mellett nem regisztráltunk az altatószer adagolásából származó nagyobb horderejű keringésváltozásokat (vérnyomás, és szívfrekvencia). Ezen makrokeringési jelenségeknek megfelelően, a kísérletek alatt a kiválasztott szervre helyezett laser Doppler áramlásmérővel mért mikrokeringési paraméterek hasonlóan stabilak voltak, a sebészi manipuláció előtti alapvonal felvételekor sem mutattak érdemi változásokat.

### **2. Mi a véleménye a hypoxiára olyan érzékeny endothel károsodás szerepéről?**

A dolgozatban a fenti kérdést „endothel-diszfunkció”-ként említtem, melyet az 1.2.1.3. pont alatt „A reperfúziós károsodás mechanizmusa” alcím alatt tárgyalok. Ez valóban kissé félrevezető lehet, mert az endothel sejtek funkciójában bekövetkező zavar nem a reperfusio alatt indul el a szöveti gyulladásos válasz eredményeként, hanem - ahogy azt a kérdés is sugallja -, már az ischaemia alatt megkezdődik. Az endothel-dysfunctio kapcsán a hypoxia és reperfusio hatására az energiaraktárak kiürülése, a vasomediator bioaktív anyagok egyensúlyának felborulása észlelhető: csökkent prosztaciklin, nitrogén-oxid szintézis mellett fokozódó endothelin, tromboxán A2 képződés. Ezzel egyidőben a sejtek felszíni molekuláinak (pl. P-selectin) expressziója

is megváltozik,<sup>1</sup> illetve transzlációs szintű változások is megjelennek: fokozott adhéziós molekula, citokin mRNS szintézis, csökkenő konstitutív NO szintáz, thrombomodulin átírás.<sup>2</sup> Paradox módon a „gyógyító” hatást hozó reperfusio a folyamat progresszióját eredményezi. Morfológiailag megfigyelhető az endothel sejtek elemelkedése a basalis membránról és gyulladásos sejtek, elsősorban aktivált neutrophil granulocyták kitapadása az sejtek felszínéhez.<sup>3</sup> Részben ezzel magyarázható az ún. 'no-reflow' jelenség is.

Továbbmenve, az endothel károsodása ennél is komplexebb módon határozza meg például a transzplantációt követő graft funkciót, ahol az ischaemia ideje mellett a hőmérséklet szerepe is hatványozott jelentőségű az adott szövettípus károsodására. Példaként említve, míg a hepatocyták a meleg ischaemias-reperfusios károsodásokkal szemben érzékenyebbek, addig a sinusoidalis endothelsejtek érzékenyebben reagálnak a hideg kiváltotta károsodásokra.<sup>4,5,6</sup>

### **3. Mennyire tekinthetők általánosnak vagy fajspecifikusnak a kapott eredmények?**

Természetesen az eredmények nem tekinthetők minden aspektusukra kiterjedően általánosnak. Az egyes fajok közt némi különbség felfedezhető, ugyanakkor a védelmi hatás lépései, elemei egy veleszületett válasz keretében jelennek meg. E tekintetben a jelpálya és a várt hatás „általános”.

Ugyanakkor a rágcsló modell humán extrapolációját nem csak a két faj anatómiai és élettani (pl.: metabolikus) különbségeiből fakadó különbségek nehezítik, hanem az a tény is, hogy a kísérleti rágcslók bizonyos – humán vonatkozásban igen gyakori és jelentős - betegségektől (atherosclerosis, diabetes, tumor stb.) mentesek, közel azonos súlyúak, életkorúak, illetve egyneműek (hímek). Jelen dolgozatban ismertetett preklinikai kísérletben a standardizált kísérletes állattartásra vonatkozó ajánlásoknak megfelelő körülmények között tartott és táplált, azonos törzsből származó, azonos korú és nemű állatok szerepeltek, melyek minden esetben azonos tenyésztőtől származnak. Ezen faktorokat figyelembe véve az egyes állatok esetében abból indulhatunk ki, hogy a máj és izomszövet állapota közel azonos, még ha kisebb különbségek esetleg nem is zárhatók ki. Ugyanakkor klinikai körülmények közt, humán beteganyagon az adaptív technikákkal foglalkozó vizsgálatok eredményeit és tapasztalatait elemezve észrevehető, hogy az adott vizsgálati alanyok funkcionális állapotában jelentős különbségek lehetnek, mely az adatok jelentős torzulását eredményezheti. Mindez egyébként a sebésztechnikai conditionálisok talán legnagyobb problémája is. Aktuálisan a témában a legintenzívebb eszmecserék arra vonatkoznak, hogy míg a távoli conditionálisok a kísérletes tanulmányokban igen eredményesnek bizonyulnak, addig a klinikai tapasztalatok ezzel szemben rendkívül vegyesek és a metaanalízisek sokszor nem tudnak szignifikáns hatást kimutatni.<sup>7</sup> A sikertelenséghez és a vegyes tapasztalatokhoz sok esetben hozzájárulhatnak a Bíráló által is felvetett jelentős betegközi különbségek a célszerv állapotát, az alapbetegségeket, metabolikus tényezőket illetően, továbbá szerepet játszhatnak a (beteg) kiválasztási kritériumok és a vizsgálat megtervezésének esetleges hibái is.

A fajok közti különbséget tovább hangsúlyozza az az ismeret is, mely szerint a védő hatást biztosító conditionális technikák ciklushossza és ismétlésszáma is különbözik az egyes fajok közt. Bizonyított tény, hogy egy kisebb állat (és így kisebb szív) rövidebb ciklushosszt igényel. Ennek okai a szív méretével fordítottan arányos myocardialis metabolikus rátában és egyéb faji különbségekben (eltérő signaltransductio, mediatorok és a collateralis hálózat faji különbségei) keresendő.<sup>8,9</sup>

A fentieket bonyolítja, hogy a fajokon belüli ciklushossz sem jelentéktelen az adaptív technikák alkalmazásakor. Ismert, hogy egy-egy ciklus időtartama, hossza fontosabb a cardio- és vasculoprotectiv hatás szempontjából, mint a ciklusok száma. Ezzel kapcsolatosan született a munkacsoportunk által megjelentett - és doktori értekezésben a terjedelmi keretek miatt nem is szereplő - közlemény („Postconditioning of the small intestine: which is the most effective algorithm in a rat model?” címmel), mely vékonybél ischaemia utáni postconditonalasi algoritmusokat és azok hatékonyságát vizsgálja.<sup>10</sup>

#### **4. Humán elrendezésben, ha sympatectomia után az aortát infrarenalisan lefogjuk, vajon a májvédő hatás szintén felfüggesztésre kerül?**

A fenti kérdésre a távoli szervi conditionalasok neuralis hipotézisét vizsgáló tanulmányok válaszolnak (Gho és mtsai), melyek szerint a távoli ischaemias perconditonalas szívizom-infarktus csökkentő potenciálja megszűnik a ganglion blokkoló hexamethonium jelenlétében, mely neuralis hatások jelenlétét sugallta. A hexamethoniumot nem csak szívizmon, hanem a mesenterialis ereken végzett perconditonalas infarktusméret csökkentő hatását is teljes mértékben megszüntette.<sup>11</sup>

Matitskaya és munkatársainak közlése szerint a cholinerg vagalis preganglionalis neuronok szelektív blokkolásával ugyancsak hatásosan megszüntethető a távoli szervi preconditionalis védő hatása, míg azok szelektív izgatásával erős védelmi hatás érhető el.<sup>12</sup> Ugyanezen munkacsoport egy 2016-os tanulmányában n. vagus ágainak denerválásával és ezt követő elektromos stimulációval váltottak ki cardioprotectiv hatást.<sup>13</sup>

#### **5. Hogyan extrapolálható mindez humán vonatkozásokra, figyelembe véve az adott kísérleti állatfaj érintett szerveinek anatómiai felépítését, a kollateralisok jelentőségét, a hemodinamikai és laboratóriumi paraméterek különbözőségeit?**

A válaszban részben utalnék a 3. kérdésre, mely a fajok közti különbségeket említi. Itt külön részletezném a collateralis hálózat jelentőségére, melynek feltérképezésére kutatócsoportunk különös hangsúlyt fektetett az alsó végtagi ischaemia modelljeinek megtervezése kapcsán („Collateral circulation of rat lower limb and its significance in ischemia-reperfusion studies” - Surgery Today 2014).<sup>14</sup> Ebben a vizsgálatban külön kitértünk a teljes kirekesztés (tourniquet) és a kirekesztőkkel létrehozott ischaemia hatásaira és a lumbalis és egyéb collateralisok fejlettségére. Az elvégzett vizsgálatok mind egészséges, atherosclerosistól mentes állatokon történtek, ugyanakkor a humán alkalmazás elsődlegesen már károsodott és így jelentős variációkat mutató collateralis keringéssel bíró alsó testfélen, végtagon jönnek létre az esetek jelentős részében.

A haemodinamikai hatások kapcsán szintén számolni kell az egészséges állatok jó cardialis és vasomotor válaszkészségével míg - vélhetően az esetek jelentős részében - betegek potenciálisan ischaemias cardiomyopathiában is szenvednek.

A laborparaméterek változásának tekintetében, illetve az nitroblue-tetrazolium (NBT) teszt humán alkalmazásának vonatkozásában nem látok lényegi különbséget. Ezt igazolja azon (elfogadás alatt álló) közleményünk is, melyben az állatkísérletek során alkalmazott enzimhisztokémiai vizsgálatot használva közel 40 beteg esetén sikerült detektálni azt a kritikus ischaemias pillanatot mely a revascularisatio, vagy a

primer amputatio javallatánakfelállítását szolgálta. Az állatkísérletben kapott enzimhisztokémiai reakciók azonosnak mutatkoztak a humán vizsgálatban látottakkal.

Köszönöm a hasznos, építő jellegű kritikai megjegyzéseket.

Tisztelettel:

.....  
(Dr. Szijártó Attila)

Budapest, 2016. szeptember 22.

### Hivatkozások:

<sup>1</sup> Rodrigues, S.F. and D.N. Granger, Role of blood cells in ischaemia-reperfusion induced endothelial barrier failure. *Cardiovasc Res.* 2010. 87(2): p. 291-9.

<sup>2</sup> Davies, M.G., T.T.T. Juynh, and H.P. O., Endothelial physiology, in *Ischemia-reperfusion injury*, P.A. Grace and R.T. Mathie, Editors. 1999, Blackwell Science: London. p. 157-179

<sup>3</sup> Carden, D.L. and D.N. Granger, Pathophysiology of ischaemia–reperfusion injury. *J Pathol.* 2000. 190(3): p. 255-266.

<sup>4</sup> Arai M, Thurman RG, Lemasters JJ.: Ischemic preconditioning of rat livers against cold storage-reperfusion injury: role of nonparenchymal cells and the phenomenon of heterologous preconditioning. *Liver Transpl.* 2001; 7(4):292-9.

<sup>5</sup> Noack K, Bronk SF, Kato A, Gores GJ.: The greater vulnerability of bile duct cells to reoxygenation injury than to anoxia. Implications for the pathogenesis of biliary strictures after liver transplantation. *Transplantation.* 1993;56(3):495-500.

<sup>6</sup> Compagnon P, Wang HB, Southard JH, Mangino MJ.: Ischemic preconditioning in a rodent hepatocyte model of liver hypothermic preservation injury. *Cryobiology.* 2002;44(3):269-78.

<sup>7</sup> Przyklenk, K., Ischaemic conditioning: pitfalls on the path to clinical translation. *Br J Pharmacol*, 2015. 172(8): p. 1961-73.

<sup>8</sup> Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, Amerson BS, Halkos ME, Kerendi F, Zhao ZQ, Guyton RA, Headrick JP, Vinten-Johansen J.: Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res.* 2005 1;67(1):124-33.

<sup>9</sup> Halkos ME, Kerendi F, Corvera JS, Wang NP, Kin H, Payne CS, Sun HY, Guyton RA, Vinten-Johansen J, Zhao ZQ.: Myocardial protection with postconditioning is not enhanced by ischemic preconditioning. *Ann Thorac Surg.* 2004;78(3):961-9; discussion 969.

<sup>10</sup> Rosero O., Ónody P., Stangl R., Turóczi Zs., Fülöp A., Garbaisz D., Lotz G., Harsányi L., Szijártó A.: Postconditioning of the small intestine: which is the most effective algorithm in a rat model? *J Surg Res* 2014 187:427-37

<sup>11</sup> Gho, B.C., et al., Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation*, 1996. 94: 2193-200.

- 
- <sup>12</sup> Mastitskaya, S., et al., Cardioprotection evoked by remote ischaemic preconditioning is critically dependent on the activity of vagal pre-ganglionic neurones. *Cardiovasc Res.* 2012. 95(4): p. 487-94.
- <sup>13</sup> Mastitskaya S, Basalay M, Hosford PS, Ramage AG, Gourine A, Gourine AV.: Identifying the Source of a Humoral Factor of Remote (Pre)Conditioning Cardioprotection. *PLoS One.* 2016 26;11(2):e0150108.
- <sup>14</sup> Rosero O., Németh K., Turóczy Zs., Fülöp A., Garbaisz D., Gyórfy A., Szuák A., Dorogi B., Kiss M., Nemeskéri Á., Harsányi L, Szijártó A. : Collateral circulation of rat lower limb and its significance in ischemia-reperfusion studies. *Surgery Today* 2014 44(12): 2345-53